

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.04.002

# hsp27 基因对鼻咽癌细胞增殖的作用及其机制

李国萍, 陈绍春\*, 李晓江, 武要洪, 何晓光

## Association of hsp27 Expression with Nasopharyngeal Carcinoma Cell Proliferation

Li Guoping, Chen Shaochun\*, Li Xiaojiang, Wu Yaohong, He Xiaoguang

Department of The Head and Neck Surgery, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University (Yunnan Cancer Hospital), Kunming 650118, China (\*: Tied for The First Author)

Corresponding Author: He Xiaoguang, E-mail: hexg1018@yahoo.com.cn

**Abstract: Objective** To study the role of hsp27 gene in the proliferation of nasopharyngeal carcinoma (NPC), and further explore the underlying mechanism. **Methods** The transcription levels of hsp27 in NP460 (normal nasopharyngeal epithelial cell lines), CNE2 (low differentiated NPC cell line) and S18 (highly migratory subclone of CNE2) cell lines were determined by Real Time PCR. Over-expression of hsp27 in CNE2 cells (with low endogenous hsp27 level) was performed by lentivirus infection, and small interference RNA technique was employed to decrease hsp27 in S18 cells (with high endogenous hsp27 level). Then MTT experiment was used to evaluate the proliferation of the hsp27-overexpressed and -inhibited cells. The transcription level of nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) was measured as well. **Results** (1) the endogenous hsp27 level of three cell lines showed significant difference and the order was S18 > CNE2 > NP460. (2) The proliferation and NF- $\kappa$ B level of CNE2 cells was significantly upregulated with hsp27 over-expression. (3) The growth rate of S18 slowed significantly concurrent with down-regulation of NF- $\kappa$ B after inhibition of hsp27. **Conclusion** hsp27 plays an important role in the proliferation of NPC cells which may mediate by NF- $\kappa$ B signal pathway. The hsp27 gene would be a potential molecular target for anti-NPC therapy.

**Key words:** hsp27; NF- $\kappa$ B; nasopharyngeal carcinoma; proliferation; mechanism

**摘要: 目的** 探讨 hsp27 基因对鼻咽癌细胞增殖的影响及其机制。 **方法** 利用实时定量 PCR 检测 NP460 (正常鼻咽部上皮细胞株)、CNE2 (低分化鼻咽癌细胞株) 及 S18 (CNE2 的高转移亚克隆) 的 hsp27 转录水平, 利用慢病毒转染技术在 hsp27 转录水平较低的 CNE2 中过表达 hsp27, 利用小干扰 RNA 技术抑制 S18 细胞内的 hsp27, 用 MTT 技术检测过表达或抑制 hsp27 后细胞增殖速率的变化, 同时检测转录因子 NF- $\kappa$ B 的转录水平的变化, 分析 hsp27 影响鼻咽癌细胞增殖速率的可能机制。 **结果** (1) 三种细胞株中的内源性 hsp27 水平为 S18 > CNE2 > NP460, 差异具有统计学意义。(2) 在 CNE2 细胞中过表达 hsp27 基因后, 细胞的增殖速率明显加快, NF- $\kappa$ B 转录水平明显上调。(3) 抑制 S18 细胞内的 hsp27 基因后, 细胞的增殖速率明显减缓, NF- $\kappa$ B 转录水平明显下调。 **结论** hsp27 基因可能通过调节 NF- $\kappa$ B 信号通路而对鼻咽癌细胞发挥明显的促增殖作用, 可设计针对 hsp27 基因的抗鼻咽癌分子治疗策略。

**关键词:** hsp27; NF- $\kappa$ B; 鼻咽癌; 增殖; 机制

**中图分类号:** R739.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2012)04-0371-05

## 0 引言

鼻咽癌 (Nasopharyngeal Carcinoma, NPC) 好发于中国南方及东南亚<sup>[1]</sup>, III、IV 期患者放化疗后 5

年生存率仅为 19%<sup>[2]</sup>。放射治疗是 NPC 的首选治疗方法, 然而 NPC 放疗后约 35% 的患者有病残存, 残存癌灶是 NPC 复发和治疗失败的主要原因<sup>[3]</sup>。近 10 年来随着肿瘤分子生物学的飞速发展, 恶性肿瘤细胞内的信号转导、细胞凋亡的诱导、血管生成以及细胞与胞外基质的相互作用等各种基本过程正逐渐被阐明, 针对肿瘤细胞受体、关键基因、调控分子和激酶为靶点而发展的靶向药物也成为研究的热点<sup>[4]</sup>。热休克蛋白 27 (heat shock protein 27, HSP27) 是小分子热休克蛋白家族 (sHSP) 中的重要

收稿日期: 2011-06-10; 修回日期: 2011-12-27

基金项目: 云南省科技厅面上项目 (2011F2132)

作者单位: 650118 昆明, 昆明医学院第三附属医院 (云南省肿瘤医院) 头颈肿瘤外科

通信作者: 何晓光, E-mail: hexg1018@yahoo.com.cn

作者简介: 李国萍 (1975-), 女, 博士在读, 主治医师, 主要从事头颈肿瘤的诊治研究; 陈绍春 (1976-), 男, 博士, 副教授, 主要从事头颈部疾病的分子生物学研究 (\*: 并列第一作者)

一员,是 hsp27 基因的表达产物。近年来的研究发现 HSP27 与肿瘤的发生发展有密切关系,国内学者结合临床对 HSP27 蛋白的表达与鼻咽癌病理类型<sup>[5]</sup>、放疗残存病灶的关系等作了初步的研究,但尚缺乏 hsp27 基因表达水平与鼻咽癌细胞增殖的关系及相关机制的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、质粒和主要试剂

鼻咽癌细胞株 CNE2、S18 由中山大学癌症中心的钱朝南教授惠赠;慢病毒载体 PLIG 及包装质粒 pMDLg/pRRE、pRSV-REV 和 pCMV-VSVG 由香港中文大学孔祥复教授惠赠;用于慢病毒包装的 293T 细胞株购自 ATCC 公司(USA),Trizol RNA 提取试剂盒购自 Invitrogen 公司(USA),ImProm-II™ 反转录试剂盒购自 Promega 公司(USA),Power SYBR Green 实时定量 PCR 试剂盒和相应的 MicroAmp™ Optical 实时定量 PC 反应试管购自 A&B 公司(Applied Biosystems Ltd,UK),胎牛血清及各种培养液分别购自 Gibco 公司(USA)和 Sigma 公司(USA),引物及 SiRNA 由 Tech Dragon (Hong Kong)有限公司合成,见表 1。

表 1 hsp27、NF-κB 和 GAPDH 的 Real Time PCR 引物序列  
Table 1 The primer sequences of hsp27, NF-κB and GAPDH used in Real Time PCR

Genes	Sequences	Amplified size/bp
hsp27	Forward 5'-AGTGGTCGCAGTGGTTAG-3'	350
	Reverse 5'-CAGGAGGAGGAACTTG-3'	
NF-κB	Forward 5'-AGAAGAGAGTGCTGGAGTTC-3'	199
	Reverse 5'-AGAATGAAGGTGGATGATTG-3'	
GAPDH	Forward 5'-TGCCTCTGCACCACCAACT-3'	232
	Reverse 5'-CCCGTTCAGCTCAGGGATGA-3'	

### 1.2 细胞培养

鼻咽癌细胞株 CNE2、S18 及包装慢病毒的 293T 细胞株用含 10% 小牛血清(FBS)的 DMEM 培养液培养;正常鼻咽部上皮细胞 NP460 用 KSFM 培养液(Invitrogen, USA)和 EpiLife 培养液(Sigma, USA)按 1:1 混合培养。细胞均常规培养于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱内。

### 1.3 实时荧光定量 RT-PCR

Trizol 法提取细胞总 RNA,定量并确认 RNA 质量后继续实验。取 2 μg 总 RNA,使用 ImProm-II™ Reverse Transcription System (Promega, USA) 试剂盒,25℃ 5 min,42℃ 60 min,72℃ 15 min 制备 cDNA。使用 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒(A&B, Applied Biosystems,

UK),共同于 MicroAmp™ Optical 8-Tube Strip 试管(A&B, Applied Biosystems, UK)中配备成 20 μl 反应体系,在 7500 Real Time PCR 仪(A&B, Applied Biosystems, UK)中反应。反应条件为:50℃ 2 min,95℃ 10 min,95℃ 15 s + 60℃ 1 min 循环 45 次,于 60℃ 1 min 阶段收集荧光。采用相对定量法分析数据,差异倍数的计算方法为:改变的倍数(fold change) = 2<sup>-ΔΔCT</sup>。ΔΔCT = (CT 靶基因 - CT 内参)<sub>处理组</sub> - (CT 靶基因 - CT 内参)<sub>未处理组</sub>,CT:循环阈值(cycle threshold),即 PCR 过程中扩增产物的荧光信号达到设定的阈值时所经过的循环次数<sup>[6]</sup>。

### 1.4 慢病毒表达载体 PLIG-hsp27 构建、病毒包装和转染

查询 hsp27(NM\_001540.3)的编码序列(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),通过 NEB cutter V2.0 (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>)检测序列的特异性核酸内切酶位点,设计出 hsp27 的克隆引物,上游引物为:5'-GCGAATTCACCATGACCGAGCGCCGCGTC-3'(含 EcoR-I 酶切位点),下游引物为:5'-TCCCCGCGGTTACTTGGCGGCAGTCTC-3'(含 Sac-II 酶切位点)。以 cDNA 为模板,利用 Platinum® Taq 高保真 DNA 聚合酶(Invitrogen, USA)通过 PCR 扩增得到带相应核酸内切酶位点的 hsp27 基因的编码序列。将 hsp27 序列连接入 PLIG 的 EcoR-I 和 Sac-II 位点之间得到重组质粒 PLIG-hsp27,转染 E. Coli 感受态细胞,利用含 Ampicillin 的 LB 培养液进行阳性克隆筛选并测序(Tech Dragon Ltd, Hong Kong)证实。PLIG 是由 pRRL-cPPT-CMV-X-PRE-SIN 质粒改良的表达绿色荧光蛋白的自灭活慢病毒载体<sup>[7]</sup>,利用磷酸钙沉淀法将重组质粒与包装质粒共同转染入 293T 细胞中,48 h 后收集培养液,过滤、高速离心得到纯化的携带目的基因或空载体的自灭活慢病毒,溶于 0.05 M 的 Tris 缓冲液(TBS, pH8.0)中-80℃ 保存备用。继而将 CNE2 细胞种于 12 孔板中(5 × 10<sup>4</sup>/孔),过夜后转染,转染时加入 8 μg/ml Polybrene (Sigma, USA),转染后 6 h 换液,24 h 后在荧光显微镜检查转染效率并继续后续实验。实验分 3 组:PLIG-hsp27 转染组、PLIG 转染组、对照组(Naive 组)。

### 1.5 小干扰 RNA (siRNA) 沉默 S18 细胞内的 hsp27 基因

hsp27 基因的异性 siRNA (5'-GUUCAAG-CAACCACCUt-3')和 Control-siRNA (5'-UAGC-GACUAAACACAUCAAA-3')<sup>[8]</sup>由 Tech Dragon 公司(Hong Kong)合成。利用 Lipofectomine 2000 (In-

vitrogen, USA) 介导转染, 实验分 3 组: hsp27-siRNA 转染组、Control-siRNA 转染组、空白对照组 (Naive 组)。转染前一天将 S18 细胞种于 6 孔板中 ( $1 \times 10^5$  / 孔)。取 100 pmol RNA 和 5  $\mu$ l Lipofectomine 混合于 500  $\mu$ l 无血清培养液中, 室温孵育 20 min, 再加入种有 S18 细胞的 6 孔板中 (每孔有培养液 1.5 ml)。转染 6 h 后换液, 继续后面实验。

### 1.6 MTT 实验

利用 MTT 实验分别检测过表达 hsp27 基因对 CNE2 细胞生长速率以及抑制 hsp27 基因对 S18 细胞生长速率的影响。在慢病毒转染或 RNA 干扰 24 h 后, 以每孔  $5 \times 10^3$  个细胞在 96 孔板上种板, 每组 3 个复孔。在设定的时间点, 每孔加入 20  $\mu$ l MTT 溶液 (5 mg/ml 于 0.01 M PBS 中), 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 继续孵育 4 h, 吸除培养液, 每孔加入 100  $\mu$ l 二甲基亚砷 (dimethyl sulfoxide, DMSO), 静置 10 min 使结晶充分溶解, 490 nm 波长下测量吸光度。

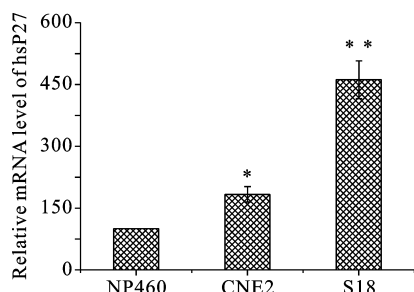
### 1.7 统计学方法

各实验组计量数据之间差异的比较采用 One Way ANOVA (SPSS 11.5) 进行统计分析; 细胞生长速率 (趋势) 差异的比较采用重复测量设计的方差分析 (Repeated Measures Define Factors, SPSS 11.5) 进行统计分析。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NP460、CNE2 和 S18 三种细胞株中 hsp27 转录水平

RT-PCR 检测显示, 来源于鼻咽部的三种上皮细胞内的 hsp27 的转录水平明显不同, 依次为: S18 > CNE2 > NP460, 差异有统计学意义 (P < 0.05), 见图 1。



\* : P < 0.05, compared with NP460;

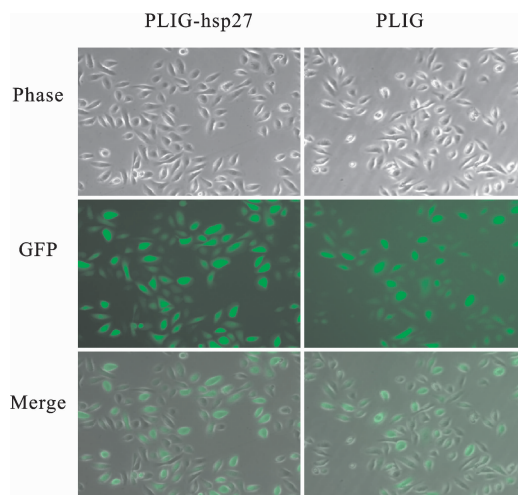
\*\* : P < 0.01, compared with NP460 and CNE2 respectively

图 1 RT-PCR 检测 NP460、CNE2 和 S18 三种细胞的 hsp27 转录水平

Figure 1 The transcriptional level of hsp27 in the three cell lines of NP460, CNE and S18

### 2.2 PLIG-hsp27、PLIG 在 CNE2 细胞中实现的转染效率

通过荧光显微镜检测 PLIG 载体中的绿色荧光蛋白基因表达产物证实, PLIG-hsp27、PLIG 在 CNE2 细胞中的转染效率达 100%, 见图 2。



Nearly 100% transduction efficiency was achieved as shown by GFP expression

图 2 PLIG-hsp27、PLIG 在 CNE2 细胞中的转染效率 (×400)  
Figure 2 Transduction efficiency of PLIG-hsp27 or PLIG into CNE2 cell line (×400)

### 2.3 MTT 法检测过表达 hsp27 基因对 CNE2 细胞生长速率的影响

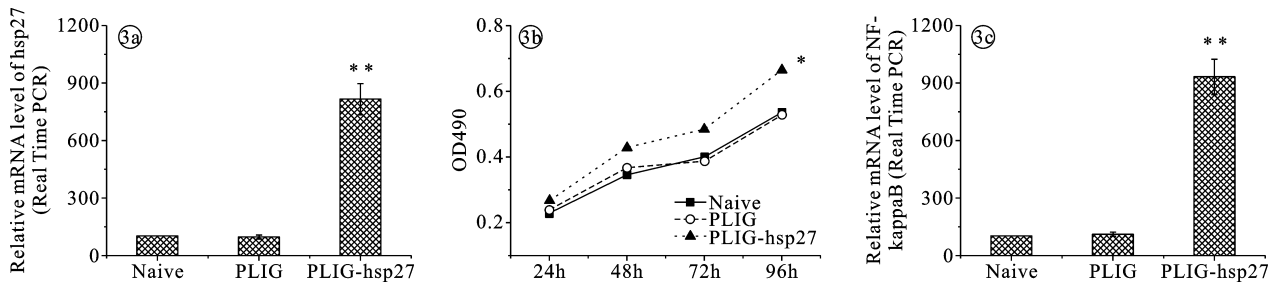
利用 PLIG-hsp27 转染鼻咽癌细胞株 CNE2 之后, 实时荧光定量 PCR 证实 PLIG-hsp27 转染组的 CNE2 细胞与 PLIG 组和 Naive 组相比, hsp27 的 mRNA 水平显著升高, 见图 3a; MTT 实验证实 PLIG-hsp27 转染的 CNE2 细胞的生长速度明显加快, 见图 3b; 而核因子 kappaB (NF- $\kappa$ B) 的转录水平也显著增高, 见图 3c。

### 2.4 MTT 法检测抑制 hsp27 基因对 S18 细胞生长速率的影响

利用小 RNA 干扰技术沉默 hsp27 基因之后, S18 细胞的生长速率明显减缓, 见图 4b; 而核因子 kappaB (NF- $\kappa$ B) 的转录水平则显著降低, 见图 4c。

## 3 讨论

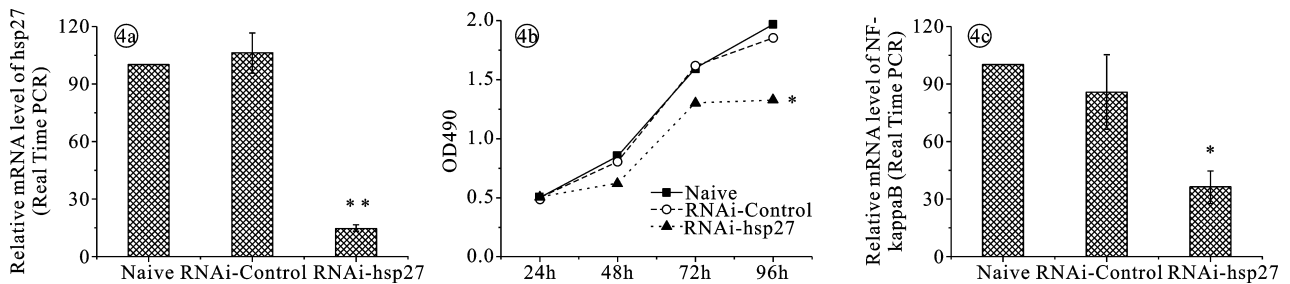
鼻咽癌是一个多因素、遗传相关性肿瘤, 其发生发展具有多阶段性, 是遗传因素与环境因素长期共同作用的结果。有学者指出, 在鼻咽癌从“正常细胞 → 癌前病变 → 癌 → 侵袭发展 → 转移”等各个阶段的发展过程中, 每个阶段可能有一定数量的功能相似或互补的基因 (易感基因群) 协同作用, 推动病变向下一阶段 (由另一易感基因群所主导) 发展, 从而形成一个多阶段性多米诺骨牌效应模式<sup>[9]</sup>。



3a,3c:RT-PCR validated the overexpression of hsp27 into CNE2 cell line and showed the corresponding upregulation of NF-κB; 3b:overexpression of hsp27 promoted CNE2 cell growth significantly as revealed by MTT assay(\*:P<0.05,\*\*:P<0.01)

图 3 过表达 hsp27 促进 CNE2 细胞生长并上调 NF-κB 转录水平

Figure 3 Overexpression of hsp27 enhanced growth of CNE2 cell and upregulated transcription level of NF-κB



4a,4c:RT-PCR validated the inhibition of hsp27 in S18 cell line and showed the corresponding downregulation of NF-κB;4b:Silence of hsp27 inhibited S18 cell growth significantly as revealed by MTT assay(\*:P<0.05,\*\*:P<0.01)

图 4 沉默 hsp27 抑制 S18 细胞生长并下调 NF-κB 转录水平

Figure 4 Silence of hsp27 inhibited growth of S18 cell and downregulated transcription level of NF-κB

HSP27 是小 HSP 家族的主要成员之一,同时也是较广泛诱导表达的分子伴侣之一。在正常的生理状态下,HSP27 较低表达以利于细胞活动的正常进行<sup>[10]</sup>。但在肿瘤细胞中,HSP27 通常是不良预后的标志,其高表达与多种肿瘤的生长、侵袭和转移密切相关。临床上,卵巢癌、骨肉瘤、子宫内膜癌、白血病等恶性肿瘤细胞中检测到比非转化细胞更高表达的 HSP27<sup>[11]</sup>;通过基因工程表达人 HSP27 的大鼠结肠癌细胞比对照细胞具有更强的侵袭力和更少的凋亡反应;相反,反义核酸干扰 HSP27 增加了前列腺癌细胞的凋亡并延迟了其发展<sup>[12]</sup>。初步研究显示,HSP27 与鼻咽癌的生长、侵袭和转移也密切相关,但其内在分子机制尚不清楚。

通常认为,HSP27 的致癌性能可能与其抗凋亡性能相关。HSP27 抗凋亡的机制包括:阻止凋亡小体的形成并阻断 caspases 的后续激活<sup>[13]</sup>;使从线粒体释放入胞质的细胞色素 C 失活<sup>[14]</sup>;通过稳定肌动蛋白微丝结构而干扰 caspase 的线粒体上游激活通路<sup>[14]</sup>。更值得注意的是,HSP27 的抗凋亡作用也依赖于其能促进特定蛋白质的蛋白酶体降解的能力,其中的两个靶蛋白分别是核转录因子 κB(NF-κB)抑制子 IκBα 和周期素依赖激酶抑制子 p27<sup>kip1</sup>。在特定状态下,HSP27 可促进 IκBα 的泛素化和后

续降解,从而增强了生存因子 NF-κB 的活性而达到 HSP27 的细胞保护作用<sup>[15]</sup>;或者是通过刺激 p27<sup>kip1</sup> 降解,以致细胞不集中在细胞周期的 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 阶段而是集中在 S 期,从而使过表达 HSP27 的细胞更易于增殖<sup>[16]</sup>。

本研究发现 hsp27 的转录水平在 NP460(正常鼻咽部上皮细胞株)、CNE2(低分化鼻咽癌细胞株)、S18(从 CNE2 中分离出的高转移亚克隆)中呈现出明显差异,具体为 S18>CNE2>NP460,提示 hsp27 的转录水平与鼻咽癌细胞的增殖和转移有着密切的联系。通过慢病毒载体介导的过表达技术和小干扰 RNA 技术结合 MTT 实验,证实了过表达 hsp27 能明显促进 CNE2 细胞的增殖速率,而沉默 hsp27 则显著减缓 S18 细胞的增殖速率,表明 hsp27 的转录水平与鼻咽癌细胞的生长速率呈正相关。我们同时发现,在鼻咽癌细胞中过表达或抑制 hsp27 的同时,NF-κB 的转录水平相应的明显升高或降低,提示 hsp27 的促细胞增殖效能可能是通过增加 NF-κB 的表达水平,从而激活 NF-κB 信号转导通路而得以实现,这与 Parcellier 等<sup>[15]</sup>发现的 hsp27 在细胞应激状态下发挥细胞保护效应的机制类似。

综上所述,该研究通过体外实验证实了 hsp27

对鼻咽癌细胞的促增殖作用及其可能的机制。尽管在体内影响鼻咽癌发展演进的环境和因素要比体外复杂得多,是一个由分子遗传因素与环境因素长期协同作用的、由不同易感基因群所主导的、多米诺骨牌效应式的发展过程,但可以确信 hsp27 属于其中某个易感基因群并对鼻咽癌细胞的增殖发挥着重要的促进作用,因此通过设计恰当分子策略(如设计相应的反义寡核苷酸)抑制 hsp27 的表达将有助于延缓鼻咽癌的发展或提高传统抗癌药物的疗效。

#### 参考文献:

- [1] Tao Q, Chan AT. Nasopharyngeal carcinoma: molecular pathogenesis and therapeutic developments [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2007, 9 (12): 1-24.
- [2] Ma BB, Hui EP, Chan AT. Systemic approach to improving treatment outcome in nasopharyngeal carcinoma: current and future directions [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99 (7): 1311-1318.
- [3] Wang RW, Zhou GF, Huang SP, et al. Expression of HSP70/HSP27 protein in residual lesion after NPC radiotherapy [J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao (Medical Science)*, 2009, 34 (11): 1091-1095. [王润文, 周高峰, 黄生鹏, 等. 鼻咽癌放疗残灶中 HSP70/HSP27 蛋白的表达 [J]. *中南大学学报 (医学版)*, 2009, 34(11): 1091-1095.]
- [4] Su J, Lu MQ, Xu XH. Progress in the molecule-targeted treatment for nasopharyngeal carcinoma [J]. *Shandong Yi Yao*, 2010, 50 (16): 104-105. [苏进, 鲁明骞, 许新华. 鼻咽癌分子靶向治疗研究进展 [J]. *山东医药*, 2010, 50 (16): 104-105.]
- [5] Wu XX, Chen YF. The clinic pathology of the expression of HSP70 and HSP27 in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Zhongguo Yi Shi Za Zhi*, 2006, 8 (10): 1422-1423. [吴显祥, 陈云芳. HSP70 与 HSP27 在鼻咽癌中的表达及其临床病理研究 [J]. *中国医师杂志*, 2006, 8 (10): 1422-1423.]
- [6] Schmittgen TD. Real-time quantitative PCR [J]. *Methods*, 2001, 25 (4): 383-385.
- [7] Chen Y, Lin MC, Yao H, et al. Lentivirus-mediated RNA interference targeting enhancer of zeste homolog 2 inhibits hepatocellular carcinoma growth through down-regulation of stathmin [J]. *Hepatology*, 2007, 46 (1): 200-208.
- [8] Kim EH, Lee HJ, Lee DH, et al. Inhibition of heat shock protein 27-mediated resistance to DNA damaging agents by a novel PKC delta-V5 heptapeptide [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (13): 6333-6341.
- [9] Li GY, Liu HY, Zhou M, et al. The molecular mechanism involved in the development of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Jin Zhan*, 2006, 33 (10): 922-931. [李桂源, 刘华英, 周鸣, 等. 鼻咽癌癌变的分子机理 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33 (10): 922-931.]
- [10] Qian SB, McDonough H, Boellmann F, et al. CHIP-mediated stress recovery by sequential ubiquitination of substrates and Hsp70 [J]. *Nature*, 2006, 440 (7083): 551-555.
- [11] Parcellier A, Schmitt E, Brunet M, et al. Small heat shock proteins HSP27 and alphaB-crystallin: cytoprotective and oncogenic functions [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7 (3-4): 404-413.
- [12] Rocchi P, So A, Kojima S, et al. Heat shock protein 27 increases after androgen ablation and plays a cytoprotective role in hormone-refractory prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2004, 64 (18): 6595-6602.
- [13] Garrido C, Bruey J M, Fromentin A, et al. HSP27 inhibits cytochrome c-dependent activation of procaspase-9 [J]. *FASEB J*, 1999, 13 (14): 2061-2070.
- [14] Paul C, Manero F, Gonin S, et al. Hsp27 as a negative regulator of cytochrome C release [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22 (3): 816-834.
- [15] Parcellier A, Schmitt E, Gurbuxani S, et al. HSP27 is a ubiquitin-binding protein involved in I-kappaB alpha proteasomal degradation [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23 (16): 5790-5802.
- [16] Parcellier A, Brunet M, Schmitt E, et al. HSP27 favors ubiquitination and proteasomal degradation of p27Kip1 and helps S-phase re-entry in stressed cells [J]. *FASEB J*, 2006, 20 (8): 1179-1181.

[编辑:安 凤;校对:周永红]